# 乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼生长性能、血浆生化指标及肝胰脏和肠道组织病理的影响

魏洪城[1] 郁欢欢[1] 陈晓明[1] 晁 伟[2] 邹方起[2] 陈 沛[1] 郑银桦[1] 吴秀峰[1] 梁旭方[3] 薛 敏[1,4*]

（1.中国农业科学院饲料研究所，国家水产饲料安全评价基地，北京 100081；2.北京首朗生物科技有限公司，北京 100041；3.华中农业大学水产学院，武汉 430070；4.农业部饲料生物技术重点开放实验室，北京 100081）

摘 要：本试验旨在探究新型蛋白质源乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼生长性能、血浆生化指标及肝胰脏和肠道组织病理的影响。选择初始体重为（25.70±0.03） g 的草鱼 540 尾，随机分为 3 组，每组 6 个重复，每个重复 30 尾鱼。对照组（J0 组）饲喂基础饲料，试验组分别用 5%（J5 组）和 10%（J10 组）的乙醇梭菌蛋白替代基础饲料中 27.5%和 55.0%的豆粕。试验期 10 周。结果表明：1）J5 组草鱼的存活率显著高于 J10 组（$P$<0.05），与 J0 组无显著差异（$P$>0.05）。J5 组草鱼的增重率显著高于 J0 组（$P$<0.05），饲料系数显著低于 J0 组（$P$<0.05）。2）J5 和 J10 组草鱼的血浆总胆固醇（TC）含量显著低于 J0 组（$P$<0.05）；J10 组草鱼的血浆葡萄糖含量显著高于 J0 组（$P$<0.05）；J10 组草鱼的血浆谷草转氨酶(AST)活性显著高于 J5 组（$P$<0.05），J5 组显著高于 J0 组（$P$<0.05）；J10 组草鱼的血浆谷丙转氨酶（ALT）活性显著低于 J0 和 J5 组（$P$<0.05）；J10 组草鱼的血浆 AST/ALT 显著高于 J0 和 J5 组（$P$<0.05）；J5 组草鱼的血浆丙二醛（MDA）含量显著低于 J0 和 J10 组（$P$<0.05）。各组草鱼的血浆免疫球蛋白 M（IgM）、白细胞介素-8（IL-8）和白细胞介素-1α（IL-1α）含量没有没有显著差异（$P$>0.05）。3）J10 组的全鱼水分含量显著高于 J5 组（$P$<0.05）。各组的全鱼粗灰分、粗蛋白质和粗脂肪含量没有显著差异

---

收稿日期：2018-04-03
基金项目：国家重点研发计划项目（2016YFF0201800）；国家重点基础研究发展计划项目（2014CB138600）；北京市现代农业产业技术体系（BAIC08-2018）；中国农业科学院基本科研业务费（1610382016010）
作者简介：魏洪城（1991—），男，四川巴中人，硕士研究生，从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: whongcheng@yeah.net
*通信作者：薛 敏，研究员，博士生导师，E-mail: xuemin@cass.cn

（*P*>0.05）。4）从肝胰脏和肠道的病理切片可以看出，随着乙醇梭菌蛋白添加量的增加，试验组草鱼肝胰脏核聚集加剧，而肠道病变较对照组有所改善。由此可知，草鱼饲料中添加 5%乙醇梭菌蛋白有利于草鱼生长性能，但添加量提高到 10%则会影响草鱼生长性能，降低存活率，并导致肝脏损伤。因此，乙醇梭菌蛋白在草鱼饲料中的推荐使用量为 5%。

关键词：乙醇梭菌蛋白；草鱼；豆粕；生长；组织病理

中图分类号：S963.31　　　　文献标识码：　　　　文章编号：

我国是水产养殖大国，草鱼(*Ctenopharyngodon idllus*)产量居水产养殖之首，年产量超过 500 万 t[1]。草鱼属于植物食性鱼类，配合饲料中鱼粉等动物性蛋白质的使用量很低，饲料中以大豆粕、棉籽粕及菜籽粕等植物性蛋白质原料为主。相对于棉籽粕和菜籽粕而言，豆粕因其产量高、适口性好和消化率高，草鱼肠道肝胰脏对豆粕的酶解消化能力优于其他植物性蛋白质，应用最为广泛[2-3]。但已有许多研究表明，对于鱼类来说，植物性蛋白质存在必需氨基酸不平衡[4]、含有抗营养因子（如脲酶、胰蛋白酶等）[5-6]、产品质量不稳定等问题[7-9]，并且豆粕中含蛋白酶抑制剂和大豆凝集素，会抑制鱼类的消化酶活性[10-11]，导致其过量使用后不利于水产动物的生长和健康。虽然可以通过发酵、物理加工、多蛋白质源配伍、补充外源氨基酸等方法在一定程度弥补植物性蛋白质的一些缺陷，但是有报道表明，对于植物食性鱼类来说，过量使用豆粕引发的肠道和肝胰脏病变等问题依然很难得到有效解决[12-13]，因此，寻找抗营养因子含量较低的非动物源性饲料蛋白质源，如单细胞蛋白质，对植物食性鱼类消化系统的健康十分重要。

随着微生物发酵技术逐步应用到饲料工业生产中，一些国家已经建立了菌体蛋白产业（MBP），菌体蛋白蛋白质含量高，且氨基酸组成相对齐全，富含维生素和多种微量元素[14]，还能使饲料具有一定鲜味从而改善其适口性[15]；同时，其具有生产效率高、生产原料来源广、可工业化生产等优点，目前已有相当部分菌体蛋白在畜禽和水产饲料中

应用[16]。但菌体蛋白产品质量很大程度受非蛋白氮含量的影响，部分产品使用质量较差，例如味精菌体蛋白存在真蛋白质含量低、氨基酸不平衡和氨基酸消化率低等问题[17]。

乙醇梭菌蛋白是以乙醇梭菌(*Clostridium autoethanogenum*)为发酵菌种生产的一种新型菌体蛋白。乙醇梭菌最早由 Abrini 等[18]从兔子粪便中分离得到，在生产工艺中以一氧化碳（CO）为原料，进行液态发酵，发酵液经离心、干燥后获得高蛋白质生物饲料原料乙醇梭菌蛋白。乙醇梭菌蛋白目前在水产饲料中还没有明确的评估数据，为此，本试验设计了乙醇梭菌蛋白替代豆粕的梯度添加试验，研究其对草鱼生长性能、血浆生化指标及肝胰脏和肠道组织病理的影响，为乙醇梭菌蛋白在水产饲料中的应用提供参考。

## 1　材料与方法

### 1.1　试验材料

试验用乙醇梭菌蛋白为淡黄色粉末，由北京首朗生物科技有限公司提供，粗蛋白质含量为 84.69%，胃蛋白酶消化率为 90.2%。

### 1.2　试验设计和试验饲料

选择初始体重为（25.70±0.03） g 的草鱼 540 尾，随机分为 3 组，每组 6 个重复，每个重复 30 尾鱼。对照组（J0 组）饲喂基础饲料，试验组分别用 5%（J5 组）和 10%（J10 组）的乙醇梭菌蛋白替代基础饲料中 27.5%和 55.0%的豆粕。

豆粕中缺乏蛋氨酸，富含精氨酸，而乙醇梭菌蛋白与之相反，因此随着乙醇梭菌蛋白添加量增加，饲料中 *DL*-蛋氨酸（*DL*-Met）的添加量逐步减少，而 *L*-精氨酸（*L*-Arg）的添加量逐步增加。各饲料原料按照添加量从小到大的顺序逐级搅拌混匀，采用双螺杆干法膨化机制成粒径 2 mm 的挤压膨化浮性颗粒饲料（TSE65 型，北京现代洋工机械科技发展有限公司）。3 组饲料等氮等能且必需氨基酸均满足草鱼需求[19]。试验饲料组成及营养水平见表 1，试验饲料氨基酸组成见表 2。

表 1　试验饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis) %

| 项目 Items | 组别 Groups | | |
|---|---|---|---|
| | J0 | J5 | J10 |
| 原料 Ingredients | | | |
| 鱼粉 Fish meal | 6.00 | 6.00 | 6.00 |
| 大豆浓缩蛋白 Soybean protein concentrate | 6.00 | 6.00 | 6.00 |
| 豆粕 Soybean meal | 40.00 | 29.00 | 18.00 |
| 面粉 Wheat flour | 30.00 | 30.00 | 30.00 |
| 次粉 Wheat midding | 9.59 | 15.18 | 21.40 |
| 乙醇梭菌蛋白 *Clostridium autoethanogenum* protein[1)] | | 5.00 | 10.00 |
| *DL*-蛋氨酸 *DL*-Met[2)] | 0.12 | 0.07 | 0.01 |
| *L*-精氨酸 *L*-Arg[2)] | | | 0.04 |
| 磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_3)_2$ | 2.85 | 3.45 | 3.45 |
| 预混料 Premix[3)] | 1.30 | 1.30 | 1.30 |
| 豆油 Soybean oil | 3.14 | 3.00 | 2.80 |
| 磷脂油 Phospholipids | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| 合计 Total | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels | | | |
| 粗蛋白质 Crude protein | 31.57 | 31.71 | 31.31 |
| 粗脂肪 Crude lipid | 6.25 | 7.91 | 6.10 |
| 水分 Moisture | 12.32 | 11.37 | 12.19 |
| 粗灰分 Crude ash | 7.30 | 7.26 | 7.07 |

| 总能 Gross energy/（MJ/kg） | 18.19 | 18.68 | 18.09 |
|---|---|---|---|

1）乙醇梭菌蛋白营养水平 Nutrient levels of *Clostridium autoethanogenum* protein：粗脂肪 crude lipid 0.16%，水分 moisture 6.90%，粗蛋白质 crude protein 84.69%，粗灰分 crude ash 6.80%，总能 gross energy 22.04 MJ/kg，赖氨酸 Lys 8.70%，蛋氨酸 Met 2.29%，苏氨酸 Thr 4.02%, 牛磺酸 Tau 0.02%，磷 P 0.92%，精氨酸 Arg 3.40%。

2）依据鱼类理想蛋白模式[20]，草鱼饲料中蛋氨酸和精氨酸水平约占饲料粗蛋白质水平的 2%和 5%进行氨基酸平衡。According to the ideal protein pattern of fish[20], made the amino acid balance based on dietary methionine and arginine levels of *Ctenopharyngodon idllus* account for about 2% and 5% dietary crude protein level.

3）预混料为每千克饲料提供 Premix provided the following per kg of diets：VA 20 mg, $VB_1$ 10 mg, $VB_2$ 15 mg, $VB_6$ 15 mg, $VB_{12}$ 8 mg, VE 400 mg, $VK_3$ 20 mg, $VD_3$ 10 mg, 烟酸胺 niacinaminde 100 mg, 维生素 C 磷酸酯 *L*-ascorbate-2-monophosphate 1 000 mg, 肌醇 200 mg, 泛酸钙 calcium pantothenate 40 mg, 生物素 biotin 2 mg, 叶酸 folic acid 10 mg, 氯化胆碱 choline chloride 3 000 mg, 玉米蛋白粉 corn protein powder 150 mg, $CuSO_4\bullet5H_2O$ 10 mg，$FeSO_4\bullet H_2O$ 300 mg, $ZnSO_4\bullet H_2O$ 220 mg, $MnSO_4\bullet H_2O$ 25 mg, $KIO_3$ 3 mg, $Na_2SeO_3$ 5 mg, $CoCl_2\cdot6H_2O$ 5 mg, $MgSO_4$ 2 000 mg，沸石粉 zeolite 332 mg。

表 2　试验饲料氨基酸组成

Table 2　Amino acid composition of experimental diets　　%

| 项目 | 组别 Groups | | |
|---|---|---|---|
| Items | J0 | J5 | J10 |
| 必需氨基酸 EAA | | | |
| 蛋氨酸 Met | 0.63 | 0.63 | 0.67 |
| 半胱氨酸 Cys | 0.43 | 0.41 | 0.43 |
| 蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys | 1.06 | 1.04 | 1.10 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 精氨酸 Arg | 2.11 | 1.93 | 1.88 |
| 赖氨酸 Lys | 1.81 | 1.90 | 2.11 |
| 苏氨酸 Thr | 1.26 | 1.26 | 1.34 |
| 色氨酸 Try | 0.39 | 0.33 | 0.34 |
| 异亮氨酸 Iso | 1.47 | 1.49 | 1.66 |
| 亮氨酸 Leu | 2.45 | 2.35 | 2.45 |
| 缬氨酸 Val | 1.50 | 1.49 | 1.67 |
| 组氨酸 His | 0.83 | 0.75 | 0.72 |
| 苯丙氨酸 Phe | 1.62 | 1.51 | 1.52 |
| 非必需氨基酸 NEAA | | | |
| 甘氨酸 Gly | 1.44 | 1.41 | 1.50 |
| 丝氨酸 Ser | 1.64 | 1.53 | 1.51 |
| 脯氨酸 Pro | 1.72 | 1.66 | 1.66 |
| 丙氨酸 Ala | 1.47 | 1.47 | 1.60 |
| 天冬氨酸 Asp | 3.34 | 3.17 | 3.27 |



1.3 饲养管理

试验正式开始前，试验鱼在养殖系统中暂养 2 周，暂养期间投喂对照组饲料。试验在北京南口国家水产饲料安全评价基地室内循环流水养殖系统中进行，水源为曝气井水，流量为 9.64 L/min。用 2%食盐水消毒试验鱼及养殖系统后，随机挑选体质健康、个体均匀的草鱼，分配到容积为 0.26 $m^3$ 的圆锥形养殖桶中。养殖试验从 2016 年 9 月 26 日到 2016 年 12 月 4 日，共 10 周。

试验期间每天表观饱食投喂 4 次，投喂时间分别为 08：00、11:00、15:00、19:00。定期检测水质，条件保持在溶氧浓度＞7.0 mg/L；总氨氮浓度＜0.3 mg/L；pH 7.5~8.5；

水温（22±1） ℃，自然光照。

1.4 样品采集及检测分析

1.4.1 样品采集

试验开始时，取 12 尾鱼作为初始全鱼样品，每 4 尾作为 1 个混合样品。试验结束时，每桶鱼饥饿 24 h 后称重，每桶取 3 尾鱼做终末全鱼样品，每桶再随机取 3~4 尾鱼，用 80 mg/L 三氯叔丁醇（上海国药集团化学试剂有限公司）麻醉后，分别测量其体长（自吻端至椎骨末端的长度）、体重，之后尾部取血，加入 30 µL/mL 抗凝剂（2%NaF+4%草酸钾），在 4 ℃、4 000 r/min 的条件下离心 10 min，取上清血浆保存于-80 ℃的冰箱中待测。每桶随机取 2 尾鱼的肝胰脏(胆管连接部位)和后肠（距离肛门 10 mm）经 4%多聚甲醛液中固定 24~48 h，经脱水，包埋，连续切片 6 µm，后经脱蜡并进行苏木精-伊红（HE）染色，显微观察。

1.4.2 检测分析

分别采用 105 ℃常压干燥法（GB/T 6435—2006）、凯氏定氮法（GB/T 6432—1994）、酸水解粗脂肪测定法（GB/T 6433—2006）、550 ℃灼烧法（GB/T 6438—2007）、过滤法(GB/T 17811—2008)测定原料、饲料和鱼体的水分、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分含量及胃蛋白酶消化率；总能的检测方法参照 ISO-9831:1998[21]采用氧弹仪测定；饲料中氨基酸含量采用国标（GB/T 18246—2000）方法进行测定。每个样品至少测定 2 个重复。

血浆生化指标包括：总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、葡萄糖（Glu）、免疫球蛋白 M（IgM）、白细胞介素-8（IL-8）、白细胞介素-1α（IL-1α）、丙二醛（MDA）含量及谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST）、总超氧化物歧化酶（T-SOD）活性，试验所用 TC 和 TG 试剂盒购自浙江东瓯诊断产品有限公司，其余试剂盒购自南京建成生物工程研究所，检测使用酶标仪(Bio-Tek，Burlington，美国)法。

生长性能和形体指标各指标计算公式如下：

存活率（survival rate,SR,%）=100×$N_t/N_0$；

增重率（weight gain rate, WGR, %）=100×$(W_t-W_0+W_d)/W_0$；

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=100×[ln($FBW$)-ln($IBW$)]/t；

饲料系数（feed conversion ratio, FCR）=$C/(W_t+W_d-W_0)$；

摄食率（feeding rate, FR, %）=100×$C/[(W_0+W_t+W_d)/2]$/t；

蛋白质沉积率（produced protein value, PPV, %）=100×（$W_t×B_{pt}–W_0×B_{p0}$）/（$C×D_p$）；

肥满度（condition factor, CF, %）=100×平均体重（g）/[平均体长（cm）]$^3$；

脏体比（viscera-somatic index, VSI, %）=100×内脏重（g）/全鱼重（g）；

肝胰指数（hepato-somatic index, HSI, %）=100×肝脏重（g）/全鱼重（g）；

脾脏指数（spleen-somatic index, SSI, %）=100×脾脏重（g）/全鱼重（g）。

式中：$N_t$为终末鱼数（尾）；$N_0$为初始鱼数（尾）；$IBW$为鱼体初始均重（g）；$FBW$为终末均重（g）；$W_0$为鱼体初始总重（g）；$W_t$为鱼体终末总重（g）；$W_d$为死亡鱼体总重（g）；$C$为摄食量（g）；$B_{pt}$为终末鱼体蛋白质含量（%）；$B_{p0}$为初始鱼体蛋白质含量（%）；$D_p$为饲料蛋白质含量（%）；$t$为养殖天数。

1.5 数据统计

试验数据以平均值±标准误（mean±SE）表示，所有数据用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析（one-way ANOVA），Duncan 氏多重比较法检验差异显著性，显著性水平为 $P<0.05$。

## 2 结果与分析

### 2.1 乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼生长性能和形体指标的影响

乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼生长性能和形体指标的影响见表 3。J5 组末均重、增重率和特定生长率均显著高于对照组（$P<0.05$）；J10 组末均重、增重率和特定生长率低于 J5 组，高于对照组，但均没有显著差异（$P>0.05$）。J5 和 J10 组饲料系数均显著低于

对照组（$P<0.05$），J5 组最低。各组摄食率虽然没有显著差异（$P>0.05$），但随着乙醇梭菌蛋白添加量的增加有提高趋势。各组蛋白质沉积率没有显著差异（$P>0.05$）。J10 组存活率显著低于对照组（$P<0.05$）。J5 组肝胰指数显著低于 J10 组（$P<0.05$），但二者均与对照组没有显著差异（$P>0.05$）。各组脏体比、肥满度和脾脏指数没有显著差异（$P>0.05$）。

表 3　乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼生长性能和形体指标的影响

Table 3　Effects of soybean meal replacement by *Clostridium autoethanogenum* protein on growth performance and physical indices of grass carp

| 项目 | 组别 Groups | | |
|---|---|---|---|
| Items | J0 | J5 | J10 |
| 初均重 IBW/g | 25.63±0.00 | 25.66±0.01 | 25.67±0.01 |
| 末均重 FBW/g | 53.24±1.90[a] | 57.43±1.61[b] | 56.70±1.73[ab] |
| 增重率 WGR/% | 107.70±5.64[a] | 123.80±8.93[b] | 120.90±5.68[ab] |
| 存活率 SR/% | 92.22±1.49[b] | 87.78±2.15[b] | 78.33±3.24[a] |
| 饲料系数 FCR | 1.54±0.05[c] | 1.23±0.05[a] | 1.38±0.05[b] |
| 摄食率 FR/% | 1.72±0.06 | 1.81±0.00 | 1.96±0.15 |
| 特定生长率 SGR/(%/d) | 1.09±0.05[a] | 1.20±0.04[b] | 1.18±0.05[ab] |
| 蛋白质沉积率 PPV/% | 26.81±3.00 | 32.08±1.43 | 27.39±2.61 |
| 肥满度 CF/% | 1.56±0.02 | 1.60±0.02 | 1.53±0.02 |
| 脏体比 VSI/% | 9.88±0.21 | 9.94±0.21 | 10.31±0.31 |
| 肝胰指数 HSI/% | 2.48±0.10[ab] | 2.35±0.09[a] | 2.68±0.11[b] |
| 脾脏指数 SSI/% | 0.22±0.01 | 0.21±0.01 | 0.24±0.02 |

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），相同或无字母表示差异不显著（$P>0.05$）。表 4 和表 5 同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P$<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P$>0.05). The same as Table 4 and Table 5.

2.2　乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼血浆生化指标的影响

乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼血浆生化指标的影响见表 4。J5 和 J10 组血浆 TC 含量显著低于 J0 组（$P$<0.05）；J10 组血浆 Glu 含量显著高于 J0 组（$P$<0.05）；J10 组血浆 AST 活性显著高于 J5 组（$P$<0.05），J5 组显著高于 J0 组（$P$<0.05）；J10 组血浆 ALT 活性显著低于 J0 和 J5 组（$P$<0.05）。虽然各组血浆 AST 和 ALT 活性均低于文献报道的正常范围值，但 J10 组血浆 AST/ALT 剧烈升高，显著高于 J0 和 J5 组（$P$<0.05）。

各组血浆特异性免疫指标 IgM、IL-8 和 IL-1α含量没有显著差异（$P$>0.05）。J5 组血浆 MDA 含量显著低于 J0 和 J10 组（$P$<0.05）。各组血浆 T-SOD 活性没有显著差异（$P$>0.05）。

表 4　乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼血浆生化指标的影响

Table 4　Effects of soybean meal replacement by *Clostridium autoethanogenum* protein on plasma biochemical indexes of grass carp

| 项目 | 组别 Groups | | | 参考范围 |
|---|---|---|---|---|
| Items | J0 | J5 | J10 | Reference range[22-25] |
| 甘油三酯 TG/(mmol/L) | 2.68±0.19 | 2.58±0.26 | 2.76±0.25 | 1~4 |
| 总胆固醇 TC/(mmol/L) | 2.97±0.26$^{b}$ | 2.04±0.10$^{a}$ | 2.19±0.10$^{a}$ | 1.2~12 |
| 葡萄糖 Glu/(mmol/L) | 5.55±0.24$^{a}$ | 5.97±0.32$^{ab}$ | 6.60±0.27$^{b}$ | 3~10 |
| 谷草转氨酶 AST/(U/L) | 5.65±0.66$^{a}$ | 8.67±1.30$^{b}$ | 14.29±0.52$^{c}$ | 20~150 |
| 谷丙转氨酶 ALT/(U/L) | 4.58±0.48$^{b}$ | 3.87±0.35$^{b}$ | 1.80±0.12$^{a}$ | 5~32 |
| 谷草转氨酶/谷丙转氨酶 | 1.25±0.17$^{a}$ | 2.21±0.28$^{a}$ | 8.06±0.55$^{b}$ | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| AST/ALT | | | |
| 免疫球蛋白M IgM/(mg/mL） | 12.45±5.38 | 15.40±10.37 | 28.48±24.87 |
| 白介素-8 IL-8/(ng/L) | 258.23±60.32 | 249.43±57.08 | 244.52±75.33 |
| 白介素-1α IL-1α/(ng/L) | 130.25±37.00 | 111.89±41.64 | 167.58±90.61 |
| 总超氧化物歧化酶 T-SOD/(U/mL) | 32.30±0.97 | 33.82±1.67 | 34.47±1.44 |
| 丙二醛 MDA/(nmol/mL) | 14.45±0.59[b] | 11.84±0.87[a] | 15.03±1.35[b] |

2.3　乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼体成分的影响

乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼体成分的影响见表 5。J10 组的全鱼水分含量显著高于 J5 组（$P<0.05$），但各组的全鱼粗灰分、粗蛋白质和粗脂肪含量没有显著差异（$P>0.05$）。

表 5　乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼体成分的影响

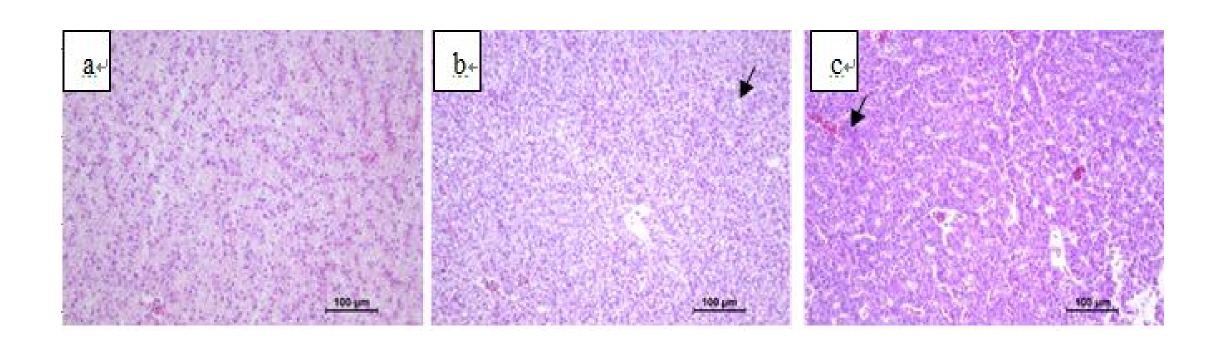
Table 5　Effects of soybean meal replacement by *Clostridium autoethanogenum* protein on body composition of grass carp　%

| 项目 Items | 组别 Groups J0 | J5 | J10 |
|---|---|---|---|
| 水分 Moisture | 71.84±0.24[ab] | 70.92±0.47[a] | 72.64±0.23[b] |
| 粗灰分 Crude ash | 3.36±0.16 | 3.24±0.06 | 3.25±0.06 |
| 粗蛋白质 Crude protein | 13.81±0.16 | 14.06±0.19 | 14.09±0.17 |
| 粗脂肪 Crude lipid | 9.14±0.14 | 9.32±0.21 | 8.97±0.09 |

2.4　乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼肝胰脏和肠道组织病理的影响

各组草鱼肝胰脏组织切片结果见图 1，肝胰脏组织病理诊断分析结果见表 6。各组草鱼肝胰脏均出现一定比例的轻微病理现象，其中 J0 组肝胰脏 11 个样本中，9 尾正常（图

1-a），1 尾出现细胞空泡，疑似脂肪肝现象(图 1-b)，1 尾出现细胞核增加聚集、肝细胞结节现象(图 1-c)；J5 组 11 个样本中, 8 尾正常，1 尾出现细胞空泡，2 尾出现细胞核增加聚集、肝细胞结节现象；J10 组 11 个样本中，7 尾正常，1 尾轻出现微脂肪肝，3 尾出现肝细胞结节现象。以上结果说明，乙醇梭菌蛋白添加量增加有逐步加剧肝细胞核聚集、细胞致密化的趋势，结合 J10 组血浆中陡增的 AST/ALT，推测该组肝组织损伤程度较 J0、J5 组较高。




a：正常细胞；b：细胞空泡化，脂肪肝症状（黑色箭头）；c：细胞结节化，核聚集（黑色箭头）。

a: normal cells; b: vacuoles cells, fatty liver symptom (black arrow); c: nodular cells, nucleus aggregation (black arrow).

图 1　肝胰脏组织切片

Fig.1　Histological sections of hepatopancreas

表 6　肝胰脏组织病理诊断分析

Table 6　Pathological diagnosis analysis of hepatopancreas tissue

| 项目 Items | 组别 Groups J0 | J5 | J10 |
| --- | --- | --- | --- |
| 样品数 Samples No. | 11 | 11 | 11 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 正常 Normal | 9 | 8 | 7 |
| 空泡化 Vacuoles | 1 | 1 | 1 |
| 结节化 Nodular | 1 | 2 | 3 |

各组草鱼后肠组织切片结果见图 2，后肠组织病理诊断分析结果见表 7。各组均出现不同程度地后肠组织损伤，其中 J0 组后肠 11 个样本中，6 尾正常（图 2-A），4 尾出现微绒毛脱落、固有层疏松、杯状细胞减少或消失症状（图 2-B）；J5、J10 组肠道结构均稍有改善，11 个样品中均有 8 尾正常，J5 组 2 尾出现微绒毛脱落、固有层疏松、杯状细胞减少或消失症状症状，1 尾出现绒毛高度变浅、肌层变薄现象（图 2-C）；J10 组 3 尾出现微绒毛脱落、固有层疏松、杯状细胞减少或消失症状症状。

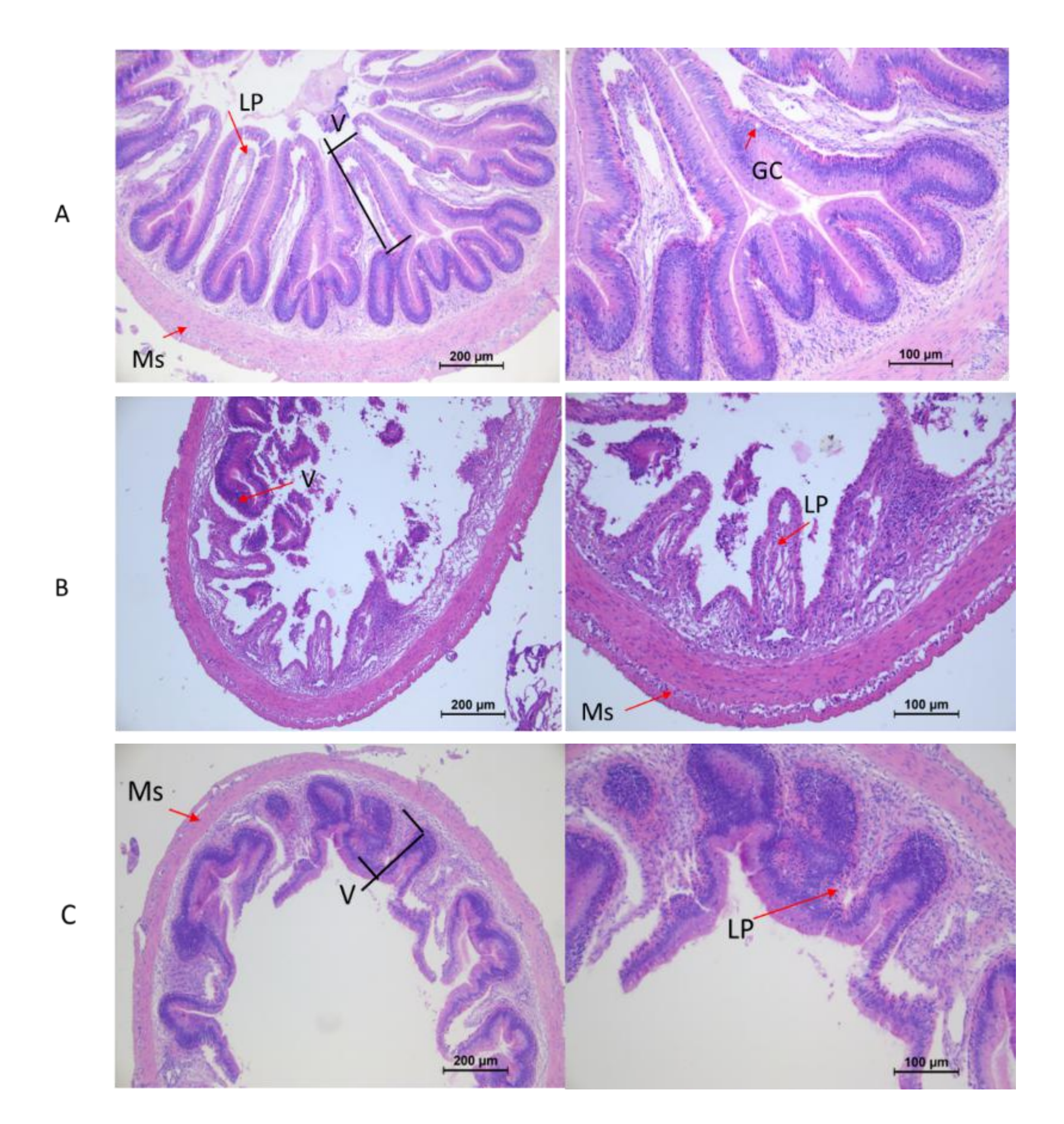



表 7　后肠组织病理诊断分析

Table 7　Pathological diagnosis analysis of posterior intestinal tissue

| 项目 Items | 组别 Groups J0 | J5 | J10 |
|---|---|---|---|
| 样品数 Samples No. | 11 | 11 | 11 |
| 正常 Normal | 6 | 8 | 8 |
| 微绒毛脱落、固有层疏松 Microvillus drop, lamina propria | 4 | 2 | 3 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| failure | | | |
| 绒毛高度变浅 Shorten villus height | 1 | 1 | 0 |

A：正常肠道组织结构；B：微绒毛（V）脱落，固有层（LP）疏松，杯状细胞(GC)消失；C：绒毛高度变浅，肌层(Ms)变薄。

A: normal intestinal tissue structure; B: microvillus （V） drop, lamina propria (LP) failure, and goblet cell (GC) lose; C: villus height short, muscularis (Ms) thinning.

图 2 后肠组织切片

Fig.2 Histological sections of posterior intestine

## 3 讨 论

乙醇梭菌蛋白由乙醇梭菌经生物发酵而得，乙醇梭杆菌细胞呈杆状，革兰氏染色阳性，严格厌氧生长，兼性化能自养，与环境隔离，性状稳定，对氯霉素、青霉素、氨苄青霉素和四环素敏感[18]，目前已经获得了比较完整的基因组序列，无有毒基因的报道[26-27]。乙醇梭菌利用 CO 和二氧化碳（$CO_2$）作为碳源生长，发酵 CO 或者 $CO_2$ 和氢气（$H_2$）生成乙醇或乙酸盐，在生产工艺中以钢铁工业煤气（转炉煤气、高炉煤气）中的 CO 为碳源，以氨水为氮源，培养基由磷酸（$H_3PO_4$）、氢氧化钾（KOH）、硫酸镁（$MgSO_4$）、硫酸亚铁（$FeSO_4$）及少量维生素（维生素 $B_1$、维生素 $B_2$、维生素 $B_5$、维生素 $B_6$、维生素 $B_{12}$、烟酸、叶酸及生物素）组成，经气体预处理、发酵、蒸馏脱水、菌体分离、喷雾干燥及污水处理 5 个流程，最后得到乙醇等清洁能源及菌体蛋白，每生产 1 万 t 乙醇，大约可以获得 1 500 t 菌体蛋白，具有巨大的开发潜能。乙醇梭菌蛋白作为钢铁工业煤气发酵制燃料乙醇的附属产品，极大促进工业废弃物转化再利用，减少了有害气体的排放，与传统植物源性蛋白质相比，不含抗营养因子，而相对于动物源性蛋白质，具有较低的沙门氏菌、生物胺等，乙醇梭菌蛋白的生产具有绿色、节能、环保的特性。但是

由于乙醇梭菌蛋白属于微生物发酵产品，且乙醇梭杆菌尚未进入我国饲料添加剂目录，因此针对乙醇梭杆菌菌种的生物安全性的全面评估需要进一步深入研究。

乙醇梭菌蛋白的粗蛋白质含量高达 80%以上，且易于动物消化吸收，富含多种微量元素，不含抗营养因子，同时富含 18 种氨基酸，总氨基酸占蛋白质的含量≥85%，其中赖氨酸和含硫氨酸含量相对较高，但精氨酸相对缺乏。蛋白质是鱼类最主要的营养和能量来源，鱼类对蛋白质的需求实际是对必需氨基酸的需求，蛋白质营养平衡实际上是氨基酸平衡，必须氨基酸的缺乏，往往会导致鱼类的一些营养性疾病和症状的产生[28]。

蛋氨酸在机体代谢中有着十分重要的作用，是鱼类所必需而植物性蛋白质含量不足的限制性氨基酸，特别是豆类原料的第一限制性氨基酸。有研究表明，饲料中蛋氨酸缺乏会显著降低动物血浆胰岛素样生长因子 1（IGF-1）含量[29]，动物的摄食受到 IGF-1 的调节[30]，因此，蛋氨酸的促生长作用可能与提高了生长中期草鱼血浆 IGF-1 含量有关，具体机制还有待深入研究。王胜[31]和唐炳荣等[32]报道，提高饲料中蛋氨酸水平能提高草鱼幼鱼和生长中期草鱼的增重、摄食量、饲料效率、特定生长率和蛋白质效率；廖英杰[33]在团头鲂幼鱼对蛋氨酸需要量的研究中也得到了相同的结论，同时王胜[31]还发现增重率、特殊生长率、饲料效率、蛋白质效率等还受饲料精氨酸水平影响。豆粕为饲料主要蛋白质源，相对于鱼类饲料理想蛋白模式以蛋氨酸/粗蛋白质约 2%、精氨酸/粗蛋白质约 5%来计，豆粕中缺乏蛋氨酸，而乙醇梭菌蛋白中的缺乏精氨酸，因此本试验补充了相应的限制性氨基酸，但草鱼属于无胃鱼，可能对晶体氨基酸的利用能力不足，无法同步吸收外源晶体氨基酸，郑宗林等[34]和谭芳芳[35]都曾有草鱼对晶体氨基酸利用效率相对不高的相关报道。本试验中，随着乙醇梭菌蛋白添加量的增加，豆粕添加量的减少，J5 组饲料中的内源性结合态蛋氨酸高于 J0 组，这可能是 J5 组增重率、末均重、特定生长率和饲料效率高于 J0 组的原因，但 J10 组生长性能和 J0 组差异不显著，这可能是由于 J10 组内源性精氨酸缺乏引起氨基酸不平衡所致。

氨基酸也是保证肠道组织紧密连接和结构完整的重要营养素[36]，特别是蛋氨酸和精氨酸对维持肠道健康具有重要作用。精氨酸在精氨酸酶（arginase）的作用下生成鸟氨酸，鸟氨酸经鸟氨酸脱羧酶的作用生成多胺（精胺、腐胺、精胺），多胺不仅对肠道上皮细胞的生长、分化和成熟起着重要作用，还对肠黏膜发育和肠道形态修复具有不可替代的作用[37]，Cheng 等[38-39]在杂交条纹鲈（*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*）、美国红鱼（*Sciaenops ocellatus*）和迟淑艳等[40]在斜带石斑鱼（*Epinephelus coioides*）试验中均证实精氨酸对肠道健康具有重要意义。同样，在肠道组织中，蛋氨酸通过转甲基可生成 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)，SAM 脱去羧基可生成 5′-腺苷甲基硫丙胺，该物质将氨丙基转移给腐胺或亚精胺也生成多胺[41]，蛋氨酸还通过转硫作用生成谷胱甘肽的底物半胱氨酸，因此蛋氨酸可以调控细胞内还原型谷胱甘肽(GSH)含量及细胞存活，而 GSH 也具有保护肠上皮细胞等重要作用[42]。彭艳等[43]研究证实，蛋氨酸可促进幼建鲤肠道发育及增加皱壁高度。本试验中对照组和试验组均有一定比例的肠道损伤现象，对照组的肠道损伤可能与饲料中豆粕含量较高，饲料中大豆抗原的水平较 J5 和 J10 组高[44]，并且内源蛋氨酸相对缺乏有关；J10 组的肠道损伤可能是由于内源精氨酸缺乏所致，而乙醇梭菌蛋白替代豆粕后降低了饲料中的抗营养因子水平，所以缓减了 J5 和 J10 组后肠组织损伤程度。

然而，当随着乙醇梭菌蛋白添加量增加，草鱼肝胰脏组织病变的比例呈升高趋势，J10 组血浆 AST/ALT 异常升高。彭艳等[43]发现，蛋氨酸对幼建鲤肝胰脏生长发育具有促进作用；Li 等[45]研究发现，精氨酸可能通过降低肝促炎性细胞因子和自由基的释放来保护肝脏。本试验中由于草鱼可能对外源添加氨基酸的吸收利用能力不足[46]，导致各组实际吸收利用的蛋氨酸和 J10 组实际吸收利用的精氨酸不足，从而各组均有肝脏损伤状况出现[47-48]，并且本研究用乙醇梭菌蛋白为新开发蛋白质源，在开发过程中可能存在潜在未知因素，导致肝胰脏病变的比例随乙醇梭杆菌蛋白添加量增加而升高，Kiessling 等[49]在菌体蛋白部分替代鱼粉饲喂虹鳟的试验中有过类似报道，目前相关报道较少，需要经

进一步研究及生产工艺的不断改进才能明确其具体原因。唐炳荣[50]报道，蛋氨酸能够降低血清中的 ALT 活性，同时提高肝胰脏中的 AST、ALT 活性；魏祥云[51]研究表明，肝脏受损时，AST 从线粒体大量释入血。本试验中，J0、J5、J10 组内源性结合态蛋氨酸递增，可能是血浆 ALT 活性逐渐降低的原因，导致 J10 组血浆 AST/ALT 异常升高，提示肝胰脏功能有可能受损，这可能是导致 J10 组存活率下降的主要原因。此外，肝脏代谢障碍，也可能与高蛋白质含量的乙醇梭菌蛋白替代豆粕后导致 J10 组中淀粉含量增加有关。

此外，廖英杰等[52]报道，适量范围内增加精氨酸含量可以提高团头鲂幼鱼血细胞呼吸爆发活性, 同时降低感染嗜水气单胞菌后累计死亡率；赵红霞等[53]也研究表明，军曹鱼幼鱼的存活率在一定范围类随饲料中精氨酸含量升高而升高。这说明 J10 组内源精氨酸缺乏可能也是直接导致其存活率低另一个原因。

## 4 结 论

饲料中添加 5%乙醇梭菌蛋白替代 27.5%的豆粕可以有效提高饲料效率、增重率和特定生长率，降低血浆 TC、MDA 含量，改善脂肪代谢和抗氧化能力，同时有利于肠道组织健康，从而提高生长性能，在此范围内使用安全有效。而进一步提高乙醇梭菌蛋白添加量至 10%则造成肝细胞损伤，肝脏功能受损，存活率降低。本试验中，建议乙醇梭菌蛋白在草鱼饲料中添加量为 5%。

参考文献：

[1] 农业部渔业渔政管理局.中国渔业统计年鉴-2016[M].北京:中国农业出版社,2016.

[2] 叶元土,薛敏,林仕梅,等.草鱼肠道、肝胰脏对饲料蛋白质酶解速度的比较[J].中国水产科学,2003,10(2):173–176.

[3] 刘利晓,黄志伟,许小友,等.微生物发酵对豆粕中抗营养因子及其营养价值的影响研究进展[J].河南畜牧兽医（综合版）,2014,35(4):8–10.

[4] MAMBRINI M,ROEM A J,CARVÈDI J P,et al.Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate and of *DL*-methionine supplementation in high-energy,extruded diets on the growth and nutrient utilization of rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss*[J].Journal of Animal Science,1999,77(11):2990–2999.

[5] 杨玉娟,姚怡莎,秦玉昌,等.豆粕与发酵豆粕中主要抗营养因子调查分析.中国农业科学,2016,49(3):573–580.

[6] GATLIN III D M,BARROWS F T,BROWN P,et al.Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds:a review[J].Aquaculture Research,2007,38(6):551–579.

[7] 朱长生,尹荣华,赵艳平.发酵豆粕的生产工艺与产品品质关系的研究进展[J].广东饲料,2014,23(5):35–37.

[8] 付亭亭,李爱科,梁新晓,等.豆粕中抗营养因子检测技术研究进展[J].粮油食品科技,2014,22(1):85–90.

[9] 陈广信,曹赞,高振华.不同发酵豆粕营养价值及应用[J].中国畜牧兽医,2014,41(2):111–114.

[10] XUE M,XIE S Q,CUI Y B.Effect of a feeding stimulant on feeding adaptation of gibel carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch),fed diets with replacement of fish meal by meat and bone meal[J].Aquaculture Research,2004,35(5):473–482.

[11] LUO L,XUE M,WU X F,et al.Partial or total replacement of fishmeal by solvent-extracted cottonseed meal in diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture Nutrition,2006,12(6):418–424.

[12] 向枭,周兴华,陈建,等.饲料中豆粕蛋白替代鱼粉蛋白对齐口裂腹鱼幼鱼生长性能、体成分及血液生化指标的影响[J].水产学报,2012,36(5):723-731..

[13] 于晓彤.不同蛋白源对草鱼摄食反应、免疫应答及肉质的影响研究[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2016:28–32.

[14] 熊智辉.单细胞蛋白在饲料业中的研究进展[J].养殖与饲料,2006(7):11–15.

[15] 胡梦红,王有基.菌体蛋白发展现况及其在水产饲料中的应用前景[J].北京水产,2006(3):42–45.

[16] 李婷婷,邓雪娟.单细胞蛋白饲料研究进展及其在动物中的应用[J].饲料与畜牧,2015(5):57–61.

[17] 赵晓芳.味精菌体蛋白资源调研及营养价值评定[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学,2003.

[18] ABRINI J,NAVEAU H,NYNS E J,et al,*Clostridium autoethanogenum*,sp.nov.,an anaerobic bacterium that produces ethanol from carbon monoxide[J].Archives of Microbiology,1994,161(4):345–351.

[19] NRC.Nutrient requirements of fish and shrimp[M].Washington,D.C:The National Academics Press,2011.

[20] KAUSHIK S J,SEILIEZ I.Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish:current knowledge and future needs[J].Aquaculture Research,2010,41(3):322–332.

[21] ISO.ISO-9831:1998 Animal feeding stuffs,animal products,and faeces or urine-determination of gross calorific value-bomb calorimeter method[S].Berlin:Deutsches Institut für Normung,1998.

[22] 张玉蓉.草鱼血液指标的测定[C]//中国海洋湖沼学会鱼类学分会、中国动物学会鱼类学分会 2012 年学术研讨会论文集.兰州:中国海洋湖沼学会,2012.

[23] 温安祥,周定刚.几种不同食性鱼类部分血液生化指标的比较研究[J].四川动物,2005,24(4):80–84.

[24] 米瑞芙.草鱼、鲤和鲢血液学指标的测定[J].淡水渔业,1982(4):10–16.

[25] 周玉,郭文场,杨振国,等.鱼类血液学指标研究的进展[J].上海水产大学学报,2001,10(2):163–165.

[26] UTTURKAR S M,KLINGEMAN D M,KLINGEMAN J M,et al.Sequence data for *Clostridium autoethanogenum* using three generations of sequencing technologies[J].Scientific Data,2015,2:150014.

[27] HUMPHREYS C M,MCLEAN S,SCHATSCHNEIDER S,et al.Whole genome sequence and manual annotation of *Clostridium autoethanogenum*,an industrially relevant bacterium[J].BMC Genomics,2015,16:1085.

[28] 周凡,邵庆均.鱼类必需氨基酸营养研究进展[J].饲料与畜牧,2010(8):20–26.

[29] TAKENAKA A,OKI N,TAKAHASHI S I,et al.Dietary restriction of single essential amino acids reduces plasma insulin-like growth factor-Ⅰ (IGF-Ⅰ) but does not affect plasma IGF-binding protein-1 in rats[J].The Journal of Nutrition,2000,130(12):2910–2914.

[30] TATAR M,BARTKE A,ANTEBI A. The endocrine regulation of aging by insulin-like signals[J]. Science,2003,299(5611):1346–1351.

[31] 王胜.草鱼幼鱼蛋白质和主要必需氨基酸需求的研究[D].博士学位论文.广州:中山大学,2006.

[32] 唐炳荣,冯琳,刘扬,等.生长中期草鱼蛋氨酸需要量的研究[J].动物营养学报,2012,24(11):2263–2271.

[33] 廖英杰.团头鲂幼鱼对蛋氨酸、赖氨酸和精氨酸需要量的研究[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2014.

[34] 郑宗林,宋宏斌,李洪琴,等.不同缓释处理氨基酸在草鱼鱼种饲料中的利用效率研究[J].粮食与饲料工业,2009(6):42–45.

[35] 谭芳芳.在草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)饲料中补充微囊和晶体氨基酸的研究[D].硕士学位论文.苏州:苏州大学,2010.

[36] 张京,戴兆来,朱伟云.肠道必需氨基酸代谢及其功能的研究进展[J].肠外与肠内营养,2010,17(1):55–59.

[37] JOHNSON L R.Regulation of gastrointestinal mucosal growth[J].World Journal of Surgery,1979,3(4):477–486.

[38] CHENG Z Y,GATLIN III D M,BUENTELLO A.Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance,immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*)[J].Aquaculture,2012,362-363:39–43.

[39] CHENG Z Y,BUENTELLO J A,GATLIN III D M.Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance,immune responses and intestinal structure of red drum,*Sciaenops ocellatus*[J].Aquacture,2011,319(1/2):247–252.

[40] 迟淑艳,韩凤禄,谭北平,等.饲料精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼生长和肠道形态的影响[J].水生生物学报,2016,40(2):388–394.

[41] SEILER N,RAUL F.Polyamines and the intestinal tract[J].Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences,2007,44(4):365–411.

[42] WANG J J,CHEN L X,LI P,et al.Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation[J].The Journal of Nutrition,2008,138(6):1025–1032.

[43] 彭艳,唐凌,帅柯,等.蛋氨酸对幼建鲤生长及消化吸收功能的影响[J].中国畜牧杂志,2009,45(13):33–38.

[44] 吴莉芳,邢秀苹,赖红娥,等.大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼肠道组织的影响

[J].西北农林科技大学学报（自然科学版）,2014,42(10):7–14.

[45] LI Q,LIU Y L,CHE Z Q,et al.Dietary *L*-arginine supplementation alleviates liver injury caused by *Escherichia coli* LPS in weaned pigs[J].Innate Immunity,2012,18(6):804–814.

[46] 陈宏民,钟文彪,许合金,等.鱼类对外源氨基酸利用的研究进展[J].饲料与畜牧,2015(1):29–32.

[47] 郭俊生,赵法伋.肝病用氨基酸制剂研究进展[J].新药与临床,1990,9(5):293–295.

[48] 汤习锋.L-精氨酸:一氧化氮通路与肝病研究进展[J].重庆医科大学学报,1994,19(2):157–160.

[49] KIESSLING A,ASKBRANDT S.Nutritive value of 2 bacterial strains of single-cell protein for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture,1993,109(2):119–130.

[50] 唐炳荣.蛋氨酸对生长中期草鱼消化吸收能力和抗氧化能力影响的研究[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2012.

[51] 魏祥云.肝功能检查的现状及研究进展[J].国外医学（卫生学分册）,1992(3):141–146.

[52] 廖英杰,刘波,任鸣春,等.精氨酸对团头鲂幼鱼生长、血清游离精氨酸和赖氨酸、血液生化及免疫指标的影响[J].中国水产科学,2014,21(3):549–559.

[53] 赵红霞,曹俊明,吴建开,等.军曹鱼幼鱼对饲料中精氨酸的需要量[J].华南农业大学学报,2007,28(4):87–90.



Effects of Soybean Meal Replacement by *Clostridium autoethanogenum* Protein on Growth Performance, Plasma Biochemical Indexes and Hepatopancreas and Intestinal Histopathology of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idllus*)

WEI Hongcheng[1] YU Huanhuan[1] CHEN Xiaoming[1] CHAO Wei[2] ZOU Fangqi[2]

CHEN Pei[1] ZHENG Yinhua[1] WU Xiufeng[1] LIANG Xufang[3] XUE Min[1,4*]

(1. *The National Aquatic Feed Safety Assessment Center*, *Feed Institute Research*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100081, *China*; 2. *Beijing Shoulang Bio-Technology Co., Ltd. Beijing* 100041, *China*; 3. *College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan* 430070, *China;* 2. *Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feed*, *Ministry of Agriculture*, *Beijing* 100081, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to evaluate the effects of soybean meal replacement by the new protein source *Clostridium autoethanogenum* protein on growth performance, plasma biochemical indexes and hepatopancreas and intestinal histopathology of grass carp (*Ctenopharyngodon idllus*). A total of 540 grass carp with initial body weight of (25.66±0.03) g were randomly divided into 3 groups with 6 replicates per group and 30 fish per replicate. Fish in the control group (J0 group) were fed a basal diet, and others in the experimental groups were fed the experimental diets which used 5% (J5 group) and 10% (J10 group) *Clostridium autoethanogenum* protein replaced 27.5% and 55.0% soybean meal, respectively. The experiment lasted for 10 weeks. The results showed as follows: 1) the survival rate of grass carp in J5 group was significantly higher than that in J10 group ($P$<0.05), while had no significant difference with J0 group ($P$>0.05). The weight gain rate of grass carp in J5 group was significantly higher than that in J0 group ($P$<0.05), and the feed conversion ratio was significantly lower than that in J0 group ($P$<0.05). 2) The plasma total cholesterol (TC) content of grass carp in J5 and J10 groups was significantly lower than that in J0 group ($P$<0.05); the plasma glucose content of grass carp in J10 group was significantly higher than that in J0 group ($P$<0.05); the plasma aspartate aminotransferase (AST) activity of grass carp in J10 group was significantly higher than that in J5 group ($P$<0.05), which in J5 group was significantly higher than that in J0 group ($P$<0.05); the plasma alanine aminotransferase (ALT)

activity of grass carp in J10 group was significantly lower than that in J0 and J5 groups ($P<0.05$); the plasma AST/ALT in J10 group was significantly higher than that in J0 and J5 groups ($P<0.05$); the plasma malondialdehyde (MDA) content in J5 group was significantly lower than that in J0 and J10 groups ($P<0.05$). There were no significant differences on the contents of immunoglobulin M (IgM), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-1α (IL-1α) in plasma among all groups ($P>0.05$). 3) The moisture content of whole fish in J10 group was significantly higher than that in J5 group ($P<0.05$). There were no significant differences on the contents of crude ash, crude protein and crude lipid of whole fish among all groups ($P>0.05$). 4) From the pathological sections of hepatopancreas and intestine, it was observed that with the increasing addition of *Clostridium autoethanogenum* protein, the nuclear accumulation in hepatopancreas increased, while the dorsal intestinal histology was improved compared to the control group. This results indicate that using 5% *Clostridium autoethanogenum* protein to replace of 27.5% soybean meal is beneficial to the growth performance of grass carp, but increase to 10% addition would negatively affect the growth performance of grass carp, reduce the survival rate, and lead to liver damage. Therefore, the recommended addition of *Clostridium autoethanogenum* protein in diet for grass carp is 5%.

Key words: *Clostridium autoethanogenum* protein; grass carp; soybean meal; growth; histopathology

---

*Corresponding author, professor, E-mail: xuemin@cass.cn （责任编辑　武海龙）